

اثر کرم با اختلاط گیاهان کلم برگ، پیه سفید انار و بخش های هوایی بارهنگ بر ترمیم زخم پوستی در موش صحرایی نر

مریم قاسمی برون^۱، اسرافیل منصوری^۲، مجید اسدی سامانی^۳، وسام کوتی^{۴*}، مسعود فروتن راد^۵، سعاد بشیری^۶، اشرف امیرزرگر^۷، محمد رضا افضل زاده^۸، محمدحسن بازافکن^۹، آمنه حردانی^{۱۰}

^۱کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران؛ ^۲گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران؛ ^۳مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۴دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران؛ ^۵گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران؛ ^۶گروه بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۲۳

چکیده:

زمینه و هدف: تحقیقات بالینی و تجربی متعدد اثربخشی گیاهان دارویی بر روند ترمیم زخم را به اثبات رسانده اند و انار، بارهنگ و کلم از جمله گیاهان مفید در طب سنتی هستند که برای التیام زخم مورد استفاده قرار گرفته اند؛ لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر بخشی کرم با اختلاط گیاهان کلم برگ، پیه سفید انار و بخش های هوایی بارهنگ بر زخم پوستی در موش صحرایی طراحی و اجرا شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۲۴ راس موش صحرایی بصورت تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی شامل کنترل (سرم فیزیولوژیک)، شاهد (تحت درمان با پتادین)، کنترل مثبت (تحت درمان با فنی توئین) و گروه تجربی تحت درمان با کرم با اختلاط پیه انار، بارهنگ و کلم برگ تقسیم شدند. پس از ایجاد زخم در شرایط غیر عفونی و یکسان، حیوانات بصورت روزانه تحت درمان قرار گرفتند و در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۴ پس از ایجاد زخم، درصد بهبودی زخم محاسبه گردید.

یافته ها: درصد بهبودی زخم در گروه دریافت کننده کرم درمانی در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۴ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: کرم با اختلاط گیاهان کلم برگ، پیه سفید انار و بخش های هوایی بارهنگ در بهبود زخم موثر بود که احتمالاً به دلیل وجود پلی فنل ها و خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان مورد استفاده بوده است.

واژه های کلیدی: کلم برگ، پیه سفید انار، بارهنگ، ترمیم زخم.

مقدمه:

تغذیه ای، داروها، چاقی، حرکت لبه زخم، و عمق آن از عوامل موثر بر فرآیند التیام زخم می باشند (۴). از داروها و پمادهای متعددی برای ترمیم زخم باز استفاده می گردد که هر کدام دارای محدودیت ها و نواقص فراوانی است (۵). در حال حاضر در ایران برای درمان جراحات ها از محلول های ضد عفونی کننده نظیر پتادین، اسید استیک، شستشو با سرم فیزیولوژیک به همراه پمادهای آنتی بیوتیک و هیدروکورتیزون استفاده می شود. ضد عفونی و آنتی بیوتیک ها با مهار رشد عوامل پاتوژنیک (۶) از ایجاد عفونت جلوگیری

التیام زخم یک فرآیند زیستی پیچیده است که سلول های مختلفی از جمله کراتینوسیت ها، فیرو بلاست ها و سلول های اندوتلیال را درگیر می کند (۱). حدود ۶ میلیون نفر در دنیا از زخم های مزمن رنج می برند بطوری که طبق آمار منتشر شده در کشور آمریکا سالانه هزینه ای بالغ بر ۱ بیلیون دلار صرف درمان زخم ها می شود (۲). التیام زخم یکی از مهم ترین فرآیندها پس از جراحی می باشد، این فرآیند شامل ۴ مرحله ی هموستاز، التهاب، تکثیر و جایگزینی بافت جدید می باشد (۳). عفونت باکتریایی، عوامل

می کنند اما نمی توانند محرک و آغازگر فرآیند ترمیم زخم باشند (۷). داروهای طبیعی و گیاهان دارویی در برخی موارد تنها راه درمان محسوب می شوند و اثر مفید آن ها بر روند بهبود زخم طی مطالعات مختلف به اثبات رسیده است (۸-۱۱) و مواد اولیه موجود در گیاهان و عصاره ی تام آن ها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرار می گیرد. کم عارضه بودن، کم هزینه بودن و سهل الوصول بودن از عوامل گرایش به مصرف گیاهان دارویی می باشد. در کتب طب سنتی به آثار دارویی گیاه و میوه ی انار اشاره شده است (۱۲، ۱۳).

انار (*Punica granatum*) سرشار از مواد آنتی اکسیدان است (۱۴). این گیاه به طور وسیعی در کشورهای مدیترانه ای، ایران، هند و به مقدار محدودی در ایالات متحده، چین، ژاپن و روسیه کشت می گردد. انار سرشار از ویتامین های C، B1، B2، بتاکاروتن، فلاونوئیدهای لوتئولین، کامپفرول و نارینژنین و تانن ها و پلی فنل های الازییک اسید، گالیک اسید و کوماریک اسید است (۱۵-۱۷). الازییک اسید دارای خاصیت ضد موتاسیونی، ضد ویروسی و سفید کنندگی پوست می باشد (۱۸). گیاه انار و میوه ی آن در پیشگیری از بیماری های قلبی - عروقی مفید می باشد (۱۹). مطالعات تجربی اثر بخشی انار را بر بهبود زخم به اثبات رسانده اند (۲۰، ۲۱). به طوری که گرد کوبیده و خشک پیه انار برای خشک کردن زخم شانکر ساده به کار می رود (۱۳). از دیگر گیاهان پر کاربرد در طب سنتی، گیاه کلم برگ (*Brassica oleracea*) می باشد و گیاهی از خانواده Cruciferae محسوب می گردد. کلم گیاهی یک ساله و دو ساله که دارای برگ های ناصاف بوده و میوه آن بصورت خورجین، دراز و باریک می باشد. این گیاه خودرو بوده و بومی سواحل انگلستان و مدیترانه است (۲۲). کلم غنی از ویتامین A، B1، B2 و C می باشد. همچنین حاوی آلکالوئیدهای سولفوران، ایندول و ایزوتیوسیانات است و قسمت مورد استفاده ی دارویی این گیاه ریشه و برگ های آن می باشند (۲۳). کلم به سبب دفع سموم برای

تسکین درد اعصاب، رماتیسم و درمان نفريت مؤثر است (۲۴). از دیگر گیاهان ارزشمند و مفید در طب سنتی بارهنگ (*Plantago major* L.) از خانواده ی Plantaginaceae می باشد. این گیاه با داشتن ترکیبات فنلی (مشتقات کافئیک اسید)، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و ویتامین C، از جمله گیاهان دارویی مهم محسوب می شود (۲۵). ترکیب اصلی فلاونوئیدی در آن Plantago 7-Iglucoside و Luteolin است که در پیشگیری و مهار سرطان نقش دارد (۱۲، ۲۶). بارهنگ در درمان بیماری پوستی و ورم، جهت پاکسازی چرک و خشک کردن و ترمیم زخم های مزمن، جراحات عمیق و سوختگی ها به کار می رود (۲۷، ۲۸). امروزه به دلیل بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، تحقیق درمورد گیاهان دارویی بخصوص گیاهانی که دارای خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی هستند، افزایش یافته است. در سال های اخیر تحقیقات گسترده ای جهت بررسی و تعیین اثر عصاره های ترکیبی و اختلاطی گیاهان بر ترمیم زخم انجام شده است که نتایج مثبتی به همراه داشته است (۶، ۳۱، ۷-۲۹). هدف مطالعه حاضر بررسی اثر التیام بخشی کرم با اختلاط پیه سفید انار، کلم برگ و بارهنگ بر زخم پوستی در موش صحرایی نر بود.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی از ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن ۲۰۰ - ۲۸۰ گرم) استفاده شد. حیوانات در دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتیگراد در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. حیوانات به آب و غذای کافی (به جز در هنگام ایجاد و اندازه گیری زخم) دسترسی داشتند. پس از ایجاد زخم، حیوانات بصورت تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی شامل گروه کنترل تحت درمان با سرم فیزیولوژیک، گروه شاهد تحت درمان با پتادین، گروه کنترل مثبت تحت درمان با فنی توفین و گروه تجربی تحت درمان با کرم با اختلاط پیه انار، بارهنگ و کلم تقسیم شدند.

جدول شماره ۱: میزان هر یک از مواد تشکیل دهنده**کرم به تفکیک فاز آبی و فاز روغنی**

| مقدار (گرم) | مواد تشکیل دهنده | فاز |
|-------------|----------------------|-----------|
| ۹ | اسید استئاریک | فاز روغنی |
| ۰/۵ | ستیل الکل | |
| ۵ | وازلین | |
| ۹ | پارافین مایع | |
| ۷ | پروپیلن گلیکول | |
| ۹ | گلیسرین | فاز آبی |
| ۰/۲۵ | متیل پارابن | |
| ۲ | عصاره ی آبی کلم برگ | |
| ۵ | عصاره ی آبی پیه انار | |
| ۵۱/۷ | آب مقطر | |
| ۰/۲۵ | پروپیل پارابن | |
| ۲ | عصاره آبی بارهنگ | |

پس از ایجاد زخم در شرایط غیر عفونی، کرم درمانی، سرم فیزیولوژیک، فنی تئوین و پتادین از روز صفر (روز ایجاد زخم) روی سطح زخم حیوانات مالیده شد و این عمل هر ۲۴ ساعت یکبار تکرار شد.

روش اندازه گیری محیط زخم: در روزهای ۳، ۶، ۹ و ۱۴ پس از اولین روز ایجاد زخم، ابتدا حیوانات بیهوش شدند و هر حیوان در وضعیت استاندارد قرار داده شد، سپس با کمک کاغذ ترانس پرئسی محیط زخم ترسیم و با کمک خط کش (دقت ۱ میلی متر) مساحت زخم اندازه گیری شد. جهت محاسبه درصد بهبود زخم نیز از فرمول زیر استفاده گردید (۳۲، ۳۳):

$$- \text{سطح زخم در روز اول} \div \text{درصد بهبودی زخم} \times 100 = \{ \text{سطح زخم در روز اول} / \text{سطح زخم در روز مورد نظر} \}$$

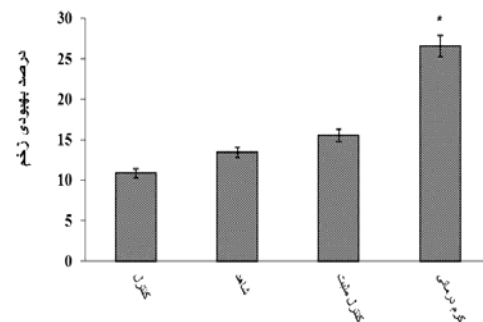
در نهایت داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS15 و آزمون آماری ANOVA و تست LSD با در نظر گرفتن سطح معنی داری $P \leq 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند. لازم به ذکر است که برای بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون کلموگروف اسمیرنوف استفاده شد و با توجه به توزیع نرمال داده ها در هر گروه از روش های پارامتری استفاده گردید.

جهت انجام آزمایش ابتدا حیوان با کتامین و زایلازین (Alfasan -Holland) بیهوش شد و موهای محل مورد نظر با کمک تیغ ضد عفونی و ماشین اصلاح کوتاه گردید و پوست حیوان با محلول آب و صابون تمیز شد، سپس حیوان در وضعیت خمیده استاندارد (Standard Crouching Position) قرار گرفت و به وسیله پانچ ۶ میلی متری لایه های اپیدرم و درم سطح مورد نظر به طور کامل برداشته شد و در پایان حیوان به قفس منفرد خود انتقال داده شد. گیاهان مورد نظر از شهر اهواز تهیه شدند و از نظر گونه توسط متخصص گیاه شناسی شناسایی و تأیید قرار گرفتند. برای تهیه ی کرم، عصاره ی آبی برگ گیاه کلم برگ، پیه سفید انار و برگ و سرشاخه های بارهنگ با روش خیساندن (Maceration) در دمای کمتر از ۱۰ درجه روی هیتز نوع electerothermal تهیه گردید. فاز آبی شامل آب، عصاره آبی گیاه کلم برگ، پیه سفید انار و بارهنگ، مواد محافظ (متیل پارابن، پروپیل پارابن) و گلیسرین می باشد، که پس از تعیین وزن آن ها براساس جدول شماره ۱، ابتدا در ظرف جداگانه ای مقدار آب مورد نیاز در این فاز را آماده کرده و مواد محافظ را در آن حل کرده سپس گلیسرین اضافه شد و برای رساندن به دمای ۷۵-۷۰ درجه سانتیگراد روی بن ماری قرار داده شد. پس از رسیدن به دمای مذکور، عصاره آبی که به دمای ۴۵-۴۰ درجه سانتی گراد رسانده شده اضافه شد که با این ترتیب فاز آبی، آماده ی وارد شدن به فرمولاسیون گردید.

تهیه فاز روغنی: فاز روغنی شامل وازلین، پارافین مایع، استئاریک اسید، ستیل الکل و پروپیلن گلیکول بود که دارای دمای ذوب متفاوت با یکدیگر بودند. اجزاء مذکور بر اساس جدول شماره ۱ توزین شد، وارد فاز روغنی گردید و دمای این مخلوط روغنی حدود ۷۵-۷۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. سپس فاز روغنی به آرامی و قطره قطره به فاز آبی اضافه گردید و عمل هم زدن با همزن برقی با شدت کافی و تا رسیدن به دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتیگراد ادامه یافت.

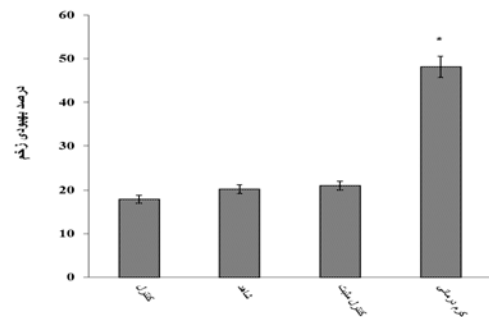
یافته ها:

بهبودی زخم در گروه تجربی تحت درمان با کرم درمانی در روز سوم (نمودار شماره ۱)، ششم (نمودار شماره ۲)، نهم (نمودار شماره ۳) و چهاردهم (نمودار شماره ۴) نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد که این افزایش از نظر آماری معنی دار بود ($P \leq 0/05$). بین درصد بهبودی زخم در گروه تحت درمان با کرم در مقایسه با گروه های شاهد و شاهد مثبت در روزهای سوم، ششم و نهم نیز اختلاف معنی داری مشاهده گردید ($P \leq 0/05$)؛ ولی در روز چهاردهم پس از اولین روز ایجاد زخم درصد بهبودی زخم در گروه تحت درمان با کرم در مقایسه با گروه کنترل مثبت اختلاف معنی داری نشان داده نشد ($P > 0/05$) (نمودار شماره ۴).



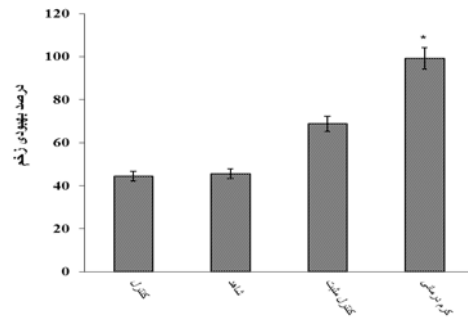
نمودار شماره ۱: مقایسه درصد بهبودی زخم در روز سوم

کنترل: سرم فیزیولوژیک / شاهد: بتادین / کنترل مثبت: فنی توئین؛ * اختلاف معنی دار بین گروه تجربی دریافت کننده کرم درمانی و گروه کنترل ($P \leq 0/05$).



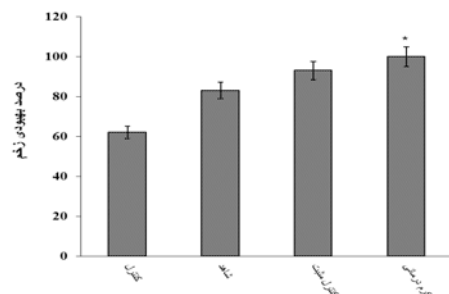
نمودار شماره ۲: مقایسه درصد بهبودی زخم در روز ششم

کنترل: سرم فیزیولوژیک / شاهد: بتادین / کنترل مثبت: فنی توئین؛ * اختلاف معنی دار بین گروه تجربی دریافت کننده کرم درمانی و گروه کنترل ($P \leq 0/05$).



نمودار شماره ۳: مقایسه درصد بهبودی زخم در روز نهم

کنترل: سرم فیزیولوژیک / شاهد: بتادین / کنترل مثبت: فنی توئین؛ * اختلاف معنی دار بین گروه تجربی دریافت کننده کرم درمانی و گروه کنترل ($P \leq 0/05$).



نمودار شماره ۴: مقایسه درصد بهبودی زخم در روز چهاردهم

کنترل: سرم فیزیولوژیک / شاهد: بتادین / کنترل مثبت: فنی توئین؛ * اختلاف معنی دار بین گروه تجربی دریافت کننده کرم درمانی و گروه کنترل ($P \leq 0/05$).

بحث:

با توجه به اهمیت ترمیم زخم در علم پزشکی، تحقیقات متعددی در این زمینه جهت یافت دارویی اثر بخش در تسریع التیام زخم، و در عین حال کم عارضه و کم هزینه انجام شده است. در این بین گیاهان دارویی بطور گسترده طی تحقیقات تجربی اثر بخشی خود را به اثبات رسانده اند و در بسیاری از مناطق جهان بعنوان اولین مرحله ی سیستم مراقبت بهداشتی به شمار می آیند (۳۴). هدف مطالعه ی حاضر بررسی اثر التیام بخشی کرم با اختلاط کلم، پیه سفید انار و بارهنگ بر زخم پوستی در موش صحرایی نر بود. نتایج این تحقیق نشان داد که مخلوط عصاره کلم، پیه سفید انار و بارهنگ بر روند التیام زخم تأثیر مثبت داشته و درصد بهبودی زخم

در این گروه در مقایسه با سایر گروه ها بیشتر بود. در طب سنتی به خواص دارویی سه گیاه مذکور اشاره بسیار شده است و تحقیقات تجربی متعدد به بررسی آثار درمانی آن ها پرداخته اند. در پژوهشی نشان داده شد، عصاره ترکیبی کلم و سفیده تخم مرغ باعث تسریع بهبود زخم ناشی از سوختگی در موش صحرایی می شود (۳۵). در مطالعه دیگری بیان گردید که برگ گونه های مختلف کلم می تواند در ترمیم زخم مفید باشد (۳۶). این خاصیت کلم ممکن است مرتبط با پلی ساکاریدهای محلول در آب که تنظیم کننده سیستم ایمنی بدن هستند، باشد. ویتامین E (۳۷) و ویتامین C (۳۸) دو آنتی اکسیدان مؤثر در حذف رادیکال های آزاد هستند که در کلم نیز به میزان قابل توجهی وجود دارند (۳۵). کلم به دلیل داشتن این دو آنتی اکسیدان و همچنین از طریق فعال کردن گلوکاتیون بر روند ترمیم زخم اثر گذاشته است (۳۹).

گیاه دیگری که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت بارهنگ بود. بارهنگ به دلیل داشتن پلی فنل ها و خاصیت آنتی اکسیدانی، روند التیام زخم را بهبود می بخشد (۴۰)، همچنین پروتئین های استخراج شده از بارهنگ بر روی تکثیر فیبروبلاست ها تأثیر گذاشته و از این طریق بر بهبود زخم اثر می گذارند (۴۱). طی پژوهشی نشان داده شد که برگ گیاه بارهنگ در پیشگیری از التهاب دهان ناشی از شیمی درمانی مؤثر است (۴۲). برگ بارهنگ خواص آنتی اکسیدانی قوی، ضد التهابی، ضد میکروبی و ضد توموری دارد، همچنین در روند ترمیم زخم مفید بوده و تولید نیتریک اکساید و TNF را افزایش می دهد (۱۲، ۴۵-۴۳). در تحقیقی که با هدف بررسی مقایسه ای خواص آنتی اکسیدانی و فنل تام عصاره ی ۵ گیاه خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله، انجام شد پی بردند که بارهنگ بیشترین خواص آنتی اکسیدانی و فنل تام را در بین گیاهان مذکور داشته است (۴۶). فلاونوئیدهای بارهنگ به دلیل خاصیت ضدالتهابی و ضد قارچی نقش مهمی در التیام زخم ایفا می کنند (۴۷-۴۸). این متابولیت ها با مهار آزاد سازی

مدیاتورهای پروستاگلاندین و هیستامین از آثار التهابی و تخریبی آن ها بر بافت جلوگیری می نمایند. همچنین به دلیل فعالیت ضد میکروبی و قبض کنندگی خود، باعث انقباض زخم و تسریع روند ترمیم اپی تلیوم می شوند (۴۹).

انار سومین میوه دارویی است که در مطالعه ی حاضر، پیه ی سفید آن مورد استفاده قرار گرفت. آثار فارماکولوژیکی متعددی از جمله خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد دیابتی، ضد التهابی و حفاظت کبدی برای پیه انار گزارش گردیده است (۵۲-۵۰). انار به دلیل ترکیبات فنلی صدمات اکسیداتیو به DNA را کاهش داده و عملکرد سیستم ایمنی را بهبود می بخشد (۵۳). طی پژوهشی که با هدف بررسی التیام بخشی انار بر زخم موش های دیابتی انجام شد مشخص شد انار پس از ۱۸ روز ۱۰۰٪ زخم ها را بهبود بخشیده است (۵۴). در تحقیقی دیگر بیان شد که درصد بهبودی زخم پس از درمان با پیه انار (۹۷/۳٪) نسبت به گروه کنترل (۶۹/۵٪) تفاوت معنی داری داشته است (۵۵). عصاره انار بازسازی اپیتلیوم را افزایش داده و باعث بهبود روند ترمیم زخم می شود. کلاژن فراوانترین پروتئین موجود در بدن پستانداران است و کمبود آن باعث خونریزی لته و غشاهای مخاطی و همچنین التیام نیافتن زخم می شود (۵۶). پیه انار از طریق افزایش اسیدهای آمینه ضروری مورد نیاز در تولید کلاژن از جمله هیدروکسی پرولین، و تامین ویتامین C کافی جهت سنتز آن، باعث تثبیت کلاژن و افزایش فعالیت فیبروبلاست ها می گردد (۵۷).

نتیجه گیری:

با توجه به یافته های پژوهش حاضر کرم با اختلاط گیاهان کلم برگ، بارهنگ و پیه انار در روند التیام زخم اثر بخشی بالایی داشته بطوری که در ۳ روز اول پس از زخم نیز این روند بهبود قابل مشاهده بوده است. فرمولاسیون و کرم مورد استفاده در این پژوهش در نوع خود جدید می باشد و جهت تأیید نیازمند تحقیقات گسترده تر بافتی و سلولی است. همچنین جهت رسیدن به فرمولاسیون دقیق و ایمن با اثر بخشی

بالا نیاز به انجام تست های بیشتر توسط متخصصین فارماکوسیتیس می باشد.

تشکر و قدردانی:

نتایج ارائه شده حاصل طرح تحقیقاتی مصوب به شماره 91s59 اجرا شده در کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی

درمانی جندی شاپور اهواز می باشد و با هزینه این معاونت صورت گرفته است که بدینوسیله از این مساعدت تشکر و قدردانی می نمایم. همچنین از متخصصین فارماکوسیتیس دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز بی نهایت سپاسگزاریم.

منابع:

1. Tao H, Anthony J, David RC, Kelly AF. In vitro human keratinocyte migration rate are associated with SNPs in the KRT1 interval. PLoS ONE. 2007; 2(8): 67-69.
2. Young A, McNaught C. The physiology of wound healing. Surgery (Oxford). 2011; 9(10): 475-479.
3. Krishnan P. The scientific study of herbal wound healing therapies: Current state of play. Curr Anaesth Crit Care. 2006; 17 (1-2): 21-27.
4. Karl M, Lacrix JV, Preston HH. Canine surgery, 4th ed. California: American Veterinary Publications, California; 1995. 42-45.
5. Sewall GK, Robertson KM, Connor NP, Heisey DM, Hartig GK. Effect of topical mitomycin on skin wound contraction. Arch Facial Plast Surg. 2003; 5(1): 59-62.
6. Esimone CO, Ibezim EC, Chah K. The wound healing effect of herbal ointment formulated with Napolena Imperialis. J Pharm Allied Sci. 2005; 3 (1): 294 -299.
7. Krishnamoorthy JR, Sumitira S, Ranjith MS, Gokulshankar S, Ranganathan S, et al. An in vitro study of wound healing effect of a poly-herbal formulation as evidenced by enhanced cell proliferation and cell migration. Egyptian Derma J. 2012; 8(1): 1-7.
8. Mukherjee PK, Suresh B. The evaluation of wound-healing potential of Hypericum hookerianum leaf and stem extracts. J Altern Complement Med. 2000; 6(1): 61-69.
9. Agyare C, Asase A, Lechtenberg M, Niehues M, Deters A, Hensel A. An ethnopharmacological survey and in vitro confirmation of ethnopharmacological use of medicinal plants used for wound healing in Bosomtwi-Atwima-Kwanwoma area, Ghana. J Ethnopharmacol. 2009; 125 (3): 393-403.
10. Preethi KC, Kuttan R. Wound healing activity of flower extract of Calendula officinalis. J Basic Clinic Physiol Pharmacol. 2009; 20 (1): 73-9.
11. Schmidt C, Fronza M, Goettert F, Geller F, Luik S, Flores EM, et al. Biological studies on Brazilian plants used in wound healing. J. Ethnopharmacol. 2009; 122(3): 523-532.
12. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of Plantago major L. A review. J Ethnopharmacol. 2000; 71 (1-2): 1-21.
13. Amin GR. Iranian traditional medicinal plants. Farhang pub; 1991.
14. Blomhoff R. Antioxidants and oxidative stress. Tidsskr Nor Laegeforen. 2004; 124 (12): 1643-5.
15. Ozkan M, Karca A, Cemero B. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. Food Chem. 2004; 86: 67-75.
16. Artik N, Murakami H, Mori T. Determination of phenolic compounds in pomegranate juice by using HPLC. Fruit Process. 1998; 12: 492-499.
17. Aviram M, Dornfeld L, Kaplan M. Pomegranate juice flavonoids inhibit low -density lipoprotein oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. Drugs Exp Clin Res. 2002; 28(2-3): 49- 62.
18. Elliott G. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. Food Technol. 1999; 53(2): 46- 48.
19. Aviram M, Dornfeld L. Pomegranate Juice consumption inhibits serum angiotensin. converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. Atherosclerosis. 2001; 158(1): 195-8.

20. Shalini A, Prakash T, Rajput R. Effect of *Punica granatum* peel aqueous extract on normal and dexamethasone suppressed wound healing in Wistar rats. *Int J Pharm Sci*. 2010; 5(2) : 34-37
21. Himesh S, Govind N, Sita S, Mishra K., Singhai A, Priyanka S. Synergistic effect of polyherbal suspension of *Punica Granatum* and *Coleus Aromaticus* in evaluation of wound healing activity. *J Herb Med Toxicol*. 2011; 5 (1): 111-115.
22. Samsam SH. Selection of Medicinal Plants. Esfahan: Mani Publication; 2007.
23. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran: Tehran University Pub; 1993.
24. Omid Beigi R. Producing and Processing of Medicinal Plant. Tarahan Nashr Pub; 1996.
25. Mehrabiyan S, Majd A, Dana R. Comparison the anticarcinogenic and antimutagenic effect of the metanolic extract of vegetative (leaves, roots) and generative (inflorescences) parts of the plant in two different regions: Hesarak and Langerood. *J biol Sci*. 2009; 1(2): 23-32.
26. Galvez M, Cordero M C, Cortes F, Ayus MY. Cytotoxic effect of *Plantago spp.* on cancer cell lines. *J Ethnopharmacol*. 2003; 88 (2-3): 125-130.
27. Manchanda RK, Gupta R. Dermatology for Homoeopaths: 2003.
28. Mylene T, Stephane C, Selim K, Monique L. Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. *Food Chemist*. 2006; 98(3): 490-501.
29. Jahanshahi Gh, Moattar F, Soltani MR. Evaluation of a herbal medicine in the treatment of recurrent Aphthous ulcer. *Beheshti Uni Dent J*. 2004; 1 (22): 19-25.
30. Rafieian M, Ansari R, Arami R, Sahinfard N, Namjou AR, Shirzad HA, et al. Effect of *Teucrium polium* and *Boswellia serrata* extracts on cotaneus burn wound healing in Balb/C mice. *J Shahrekord Uni Med Sciences*. 2010; 12(4): 49-53.
31. Tabatabaei F, Ghaffari Far F, Dalimi Asl AH, Ebrahimian H. Effects of new herbal formulation of *Euphorbia Mysinites*, *Alkanna Tinctoria* and *Peganum Harmala* combination against experimental Leishmaniasis in Balb/c mice. *Daneshvar Med*. 2005; 12 (57): 37-46.
32. Yaghmayei P, Moshrefjavadi F, Nilforooshzade M, Mardani H, Kakanejadian P. Effects of watery and alcoholic extract of green tea on the process of open skin wounds healing in male rat (NMRI). *J. Guilan Uni Med Sci*. 2009; 18 (70): 57-63.
33. Moezzi N, Najafzadeh Varzi H, Shirali.S. Comparing the effect of *Elaeagnus angustifolia* L. extract and *Lowsonia intermis* L.paste, with silver sulfadiazine ointment on wound healing in rat. *Iran J Medicinal and Aromatic Plants*. 2009; 25 (2): 253-260.
34. Shaukat M, Shareef H, Ahmad M, Gouhar S and Rizwani GH. Pharmacognostic studies on freshmature leaves of *Holoptelea integrifolia* (roxb) planch. *Pak J Botany*. 2010; 42: 3705-3708.
35. Hasan Zadeh Gh, Mehdi Khanloo N. The effect of compound of *Brassica Oleracea* L and egg-white on burn wound healing in rat. *J Sabzevar Uni Med sci*. 2004; 11 (4): 6-12.
36. Samuelsen AB, Westereng B, Yousif O, Holtekjølén AK, Michaelsen TE, Knutsen SH. Structural features and complement-fixing activity of pectin from three *Brassica oleracea* varieties: white cabbage, kale, and red kale. *Biomacromolecules*. 2007; 8 (2): 644-9.
37. Sönmez M, Yüce A, Türk G. The protective effects of melatonin and vitamin E on antioxidant enzyme activities and epididymal sperm characteristics of homocysteine treated male rats. *Reprod Toxicology*. 2007; 23: 226-231.
38. Sönmez M, Türk G, Yüce A. The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels of male Wistar rats. *Theriogenology*. 2005; 63 (7): 2063-2072.
39. Isbir T, Yaylim I, Aydin M, Ozturk O, Koyuncu H, Zeybek U, Agachan B, Yilmaz H. The effects of *Brassica oleraceae* var *capitata* on epidermal glutathione and lipid peroxides in DMBA-initiated-TPAPromoted mice; *Anticancer Res*. 2000; 20 (1): 219-24.
40. Zubair M, Ekholm A, Nybom H, Renvert S, Widen C, Rumpunen K. Effects of *Plantago major* L. leaf extracts on oral epithelial cells in a scratch assay. *J Ethnopharmacol*. 2012; 141 (3): 825-30.
41. Krasnov MS, Margasiuk DV, Iamskov IA, Iamskova VP. The effect of extremely low doses of the novel regulatory plant proteins. *Radiatrics Biologi Radioecol*. 2003; 43 (3): 269-72.

42. Pour Esmail Z, Shoori Bidgoli AR, Zargari A. Aqueous extract of *Plantago Major* leaves in preventing chemotherapy-induced Stomatitis. *Pajouhandeh*. 2003; 8 (3): 171-175.
43. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African J. Biotechnol*. 2006; 5 (11): 1142-1145.
44. Sour E, Amin G, Farsam H, Barazandeh Tehrani M. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU*. 2008; 16 (2): 83-87.
45. Gomez-Flores R, Calderon CL, Scheibel LW, Tamez-Guerra P, Rodriguez-Padilla C, Tamez-Guerra R et al. Immunoenhancing properties of *Plantago major* leaf extract. *Phytother Res*. 2000; 14 (8): 617-22.
46. Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M. The Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of Some Medicinal Plants in Iran. *J Fasa Uni Med Sci*, 2011; 1 (3): 160-167.
47. Okuda T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants: *Phytochemistry*. 2005; 66: 2012–2031.
48. Nayak SB, Sandiford S and Maxwell A. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf: *Evid Based Complement Alt Med*. 2009; 6: 351–356.
49. Pesin I, Koca U, Keles H, Kupeli Akkol. E. Wound healing activity of *Rubus sanctus* Schreber (Rosaceae): preclinical study in animal models: *Evid. Based Complement Alt Med*. 2009; 10: 1093.
50. Kulkarni AP, Mahal HS, Kapoor S, Arodhya SH. Invitro studies on the binding, antioxidant and cytotoxic actions of *Punica* lacin *Journal of .Agric Food Chem* .2007; 55 (4): 1491-500.
51. Hontecillas R, Shea M, Einerhand A, Diguardo M, Bassaganya.Riera J. Activation of PPAR gamma & alpha by punicicacid ameliorates glucose tolerance and supressess obesity related inflamm *Jam Coll Nutr*. 2009; 28 (2): 84-95.
52. JulieJurenka MT. Therapeutic applications of pomegranate .A Review. *Alt Med Rev*. 2008; 13 (2): 128-144.
53. Bub A, Watzl B, Blockhaus M, Briviba K, Liegibel U, Muller H, et al. Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *J Nutr Biochem* 2003; 14 (2): 90-98.
54. Ghasemi Pirbalouti A, Azizi S, Koohpayeh A, Hamed B. Wound healing effect of *Malva sylvestris* and *Punica granatum* in Alloxan-induced diabetic rats. *Acta Pol Pharm- Drug Res*. 2010; 67(5): 511-516.
55. Ravindrasingh RA, Sagar VS, Shalini Aa, Ramyasudha. Effect of *Punica Granatum* peel extract on burn wound healing in albino wistar rats. *Int J appl biol pharm technol*. 2011; 2 (1): 353-357.
56. Nejatshokouhi A, Einizadeh A. A review of biochemistry. Mashhad: Fifty nine publ; 2010.
57. Udupa AL, Kulkarni DR, Udupa SL. Effect of *Tridax procumbens* extracts on wound healing. *Int J Pharmacol*. 2008; 33 (1): 37-40.

Effect of ointment with cabbage, pomegranate peel and common plantain on wound healing in male rat

Ghasemi-boroon M¹, Mansori E², Asadi-Samani M³, Kooti W^{1*}, Foroutan-Rad M¹, Bashiri S⁴, Amirzargar A⁵, Afzalzadeh MR⁴, Bazafkan MH⁶, Hardani A¹

¹ Member of Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, I.R. Iran; ² Anatomical Sciences Dept., Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, I.R. Iran; ³ Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; ⁴ Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, I.R. Iran; ⁵ Physiology Dept., Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, I.R. Iran; ⁶ Environmental Health Dept., Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, I.R. Iran.

Received: 29/Apr/2013 Accepted: 15/Sep/2013

Background and aims: Numerous clinical and experimental researches have proved the herb plants effectiveness on the process of healing. Among these useful medicinal plants in traditional medicine are cabbage (*Brassica oleracea*), pomegranate (*Punica granatum*) peel, and common plantain (*Plantago major* L.). The present study was designed and done by mixing cabbage, pomegranate peel, and common plantain, in order to study the healing effect of this ointment on rat.

Methods: In this experimental study, 24 rats as randomized were divided to 4 groups of 6 heads consisted of control (normal saline), sham (being treated by Petadin), positive control (being cured by Phenytoin) and the experimental group being treated by the ointment made of cabbage, pomegranate peel, and common plantain. After being injured in aseptic and similar conditions, the animals were being treated daily, and in days 3, 6, 9 and 14 after injuring, the percentage of wound was studied.

Results: Results have shown the percentage of wound healing in the receiving ointment therapy in days 3, 6, 9 and 14 in comparison with the control group has significant difference ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of study showed pomade that used is effective in healing of the wound which is probably due to polyphenols and the antioxidant features of the mentioned plants.

Keywords: Cabbage, Pomegranate peel, Common plantain, Wound healing.

Cite this article as: Ghasemi-boroon M, Mansori E, Asadi-Samani M, Kooti W, Foroutan-Rad M, Bashiri S, Amirzargar A, Afzalzadeh MR, Bazafkan MH, Hardani A. Effect of ointment with cabbage, pomegranate peel and common plantain on wound healing in male rat. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014; 15(Suppl): 92-100.

***Corresponding author:**

Ahvaz, Jundishapur University of Medical Sciences, School of Paramedicine, Department of Laboratory Sciences; Tel: 00989336583929, E-mail: kweasm@yahoo.com